Manual de instrucciones

DiaSTAT™
Hemoglobin A_{1c}
Program

REF 210-0002,
100 Tests
REF 210-0065,
500 Tests

Indicaciones

El Bio-Rad DiaSTAT™ Hemoglobin A_{1c} Program está indicado para la determinación in vitro de glucohemoglobina humana en muestras de pacientes normales y diabéticos. La proporción glucohemoglobina: hemoglobina A puede determinarse en presencia de hemoglobinas S y C.

Para uso diagnóstico in vitro.

Nota:
El Bio-Rad DiaSTAT™ Hemoglobin A_{1c} Program está indicado para utilizarse con el Bio-Rad DiaSTAT Analyzer, empleando la versión 1.10 o superior del software.

El DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program ha obtenido la certificación del Programa Nacional de Estandarización de Glucohemoglobina (NGSP según sus siglas en inglés).

Septiembre 2003
L10011106ES00

BIO-RAD

DiaSTAT™ Hemoglobin A_{1c} Program



IVD For In Vitro Diagnostic Use

 *Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA*

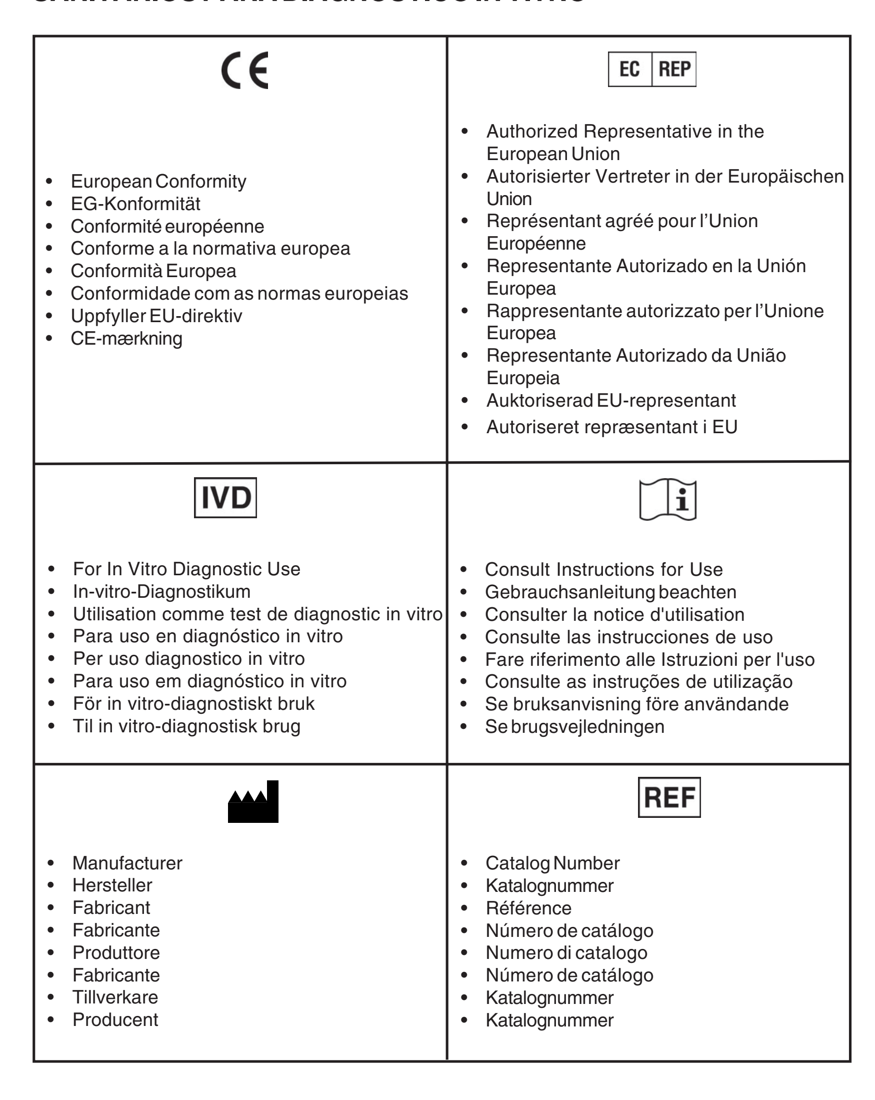


FRANCE, *Bio-Rad, Marnes-la-Coquette*

CD EN VARIOS IDIOMAS

Este manual incluye un CD-ROM en los siguientes idiomas: inglés, alemán, francés, español, italiano, portugués, sueco y danés.

SÍMBOLOS DE LA DIRECTIVA 98/79/CE SOBRE PRODUCTOS SANITARIOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO



CE • European Conformity • EG-Konformität • Conformité européenne • Conforme a la normativa europea • Conformità Europea • Conformidade com as normas europeias • Uppfyller EU-direktiv • CE-mærkning	EC REP • Authorized Representative in the European Union • Autorisierter Vertreter in der Europäischen Union • Représentant agréé pour l’Union Européenne • Representante Autorizado en la Unión Europea • Rappresentante autorizzato per l’Unione Europea • Representante Autorizado da União Europeia • Auktoriserad EU-representant • Autoriseret repræsentant i EU
IVD • For In Vitro Diagnostic Use • In-vitro-Diagnostikum • Utilisation comme test de diagnostic in vitro • Para uso en diagnóstico in vitro • Per uso diagnostico in vitro • Para uso em diagnóstico in vitro • För in vitro-diagnostiskt bruk • Til in vitro-diagnostisk brug	i • Consult Instructions for Use • Gebrauchsanleitung beachten • Consulter la notice d'utilisation • Consulte las instrucciones de uso • Fare riferimento alle Istruzioni per l'uso • Consulte as instruções de utilização • Se bruksanvisning före användande • Se brugsvejledningen
• Manufacturer • Hersteller • Fabricant • Fabricante • Produttore • Fabricante • Tillverkare • Producent	REF • Catalog Number • Katalognummer • Référence • Número de catálogo • Numero di catalogo • Número de catálogo • Katalognummer • Katalognummer

SÍMBOLOS DE LA DIRECTIVA 98/79/CE SOBRE PRODUCTOS SANITARIOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

LOT • Lot Number • Chargenbezeichnung • Numéro de lot • Número de lote • Numero di lotto • Número do lote • Batchnummer • Lotnummer	• Temperature Limit • Temperaturgrenze • Limite de température • Límite de temperatura • Limite di temperatura • Limite de temperatura • Temperaturgränser • Temperaturområde
EXP • Use by • Haltbar bis • Utiliser avant • Fecha de caducidad • Scadenza • Utilizar até • Användes före • Udløbsdato	ANLT CRTR • Analytical Cartridge • Analytische Kartusche • Cartouche analytique • Cartucho de análisis • Cartuccia analitica • Coluna analítica • Analyskolonn • Analysekolonne
REAG A • Reagent A • Reagenz A • Réactif A • Reactivo A • Reagente A • Reagente A • Reagens A • Reagens A	REAG B • Reagent B • Reagenz B • Réactif B • Reactivo B • Reagente B • Reagente B • Reagens B • Reagens B
HEML REAG • Hemolysis Reagent • Hämolysereagenz • Réactif d'hémolyse • Reactivo de hemólisis • Reattivo di emolisi • Reagente de hemólise • Hemolysreagens • Hæmolysereagens	SAMP VIAL • Sample Vials • Probengefäße • Microtubes échantillons • Viales • Microprovette per campione • Frascos de amostra • Provrör • Prøvekopper

Bio-Rad Laboratories
Diagnostics Group
4000 Alfred Nobel Drive
Hercules, California 94547
USA

SERVICIO DE ASISTENCIA TÉCNICA

Teléfono gratuito: 1-800-2BIORAD (224-6723)

Bio-Rad ofrece una línea telefónica gratuita de asistencia técnica, disponible 24 horas al día, 7 días a la semana.

El número de teléfono gratuito sólo puede utilizarse en los Estados Unidos de América y Puerto Rico.

Fuera de EE.UU., póngase en contacto con la oficina regional de Bio-Rad si necesita ayuda.

INDICACIONES

El Bio-Rad DiaSTAT™ Hemoglobin A_{1c} Program está indicado para la determinación in vitro de glucohemoglobina humana en muestras de pacientes normales y diabéticos. La proporción glucohemoglobina:hemoglobina A total puede determinarse en presencia de hemoglobinas S y C.

El DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program está indicado para utilizarse exclusivamente con el Bio-Rad DiaSTAT Analyzer.

Para uso diagnóstico in vitro.

PRECAUCIÓN

Lea el contenido del manual de instrucciones y familiarícese con él antes de utilizar el programa por primera vez.

Todo el personal que utilice el sistema DiaSTAT debe utilizar el equipo estándar de seguridad para laboratorio (p. ej., gafas protectoras, bata de laboratorio y guantes).

Todo el material de referencia (esto es, los controles) y las muestras de pacientes deben considerarse material biopeligroso y manipularse con cuidado.

El material residual contiene residuos de muestras y reactivos; trátelo y deséchelo según las normas de seguridad de su laboratorio, o de acuerdo con la normativa local.

Marcas comerciales y referencias

DiaSTAT, DIAMAT y LYPHOCHEK son marcas comerciales de Bio-Rad Laboratories, Inc.

Kimwipe es una marca comercial de Kimberly-Clark Corp.

Micro/Pettor es una marca comercial de Baxter International, Inc.

Parafilm es una marca registrada de American Can Co.

Teflon es una marca comercial de DuPont Co.

Certificación

El DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program ha obtenido la certificación del Programa Nacional de Estandarización de Glucohemoglobina (NGSP según sus siglas en inglés).

CONTENIDO

FIGURAS Y TABLAS

1.0 Introducción

1.1 Resumen y explicación de la prueba

La hemoglobina humana sufre en el interior de los eritrocitos una reacción química no enzimática con la glucosa.[1] Se cree que la velocidad y la magnitud de esta reacción dependen de la concentración media de glucosa en sangre durante la vida del eritrocito.[2, 3] La reacción da lugar a varios productos, las "glucohemoglobinas", que se denominan colectivamente HbA_1.[4] La más abundante de estas glucohemoglobinas es la HbA_{1c}. Se ha sugerido que la proporción de HbA_{1c} o HbA_1 respecto a la concentración de HbA total constituye una medida fiable del grado de control metabólico en pacientes diabéticos.

El DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program mide la proporción de HbA_{1c} respecto a HbA total.

1.2 Principios del procedimiento

El DiaSTAT aplica la cromatografía de intercambio catiónico de baja presión junto con la elución en gradiente para separar los subtipos y variantes de la hemoglobina humana a partir de sangre total hemolizada.[5-7] Las fracciones de hemoglobina separadas se registran mediante absorción de luz a 415 nm. El cromatograma obtenido se registra y almacena en el ordenador integrado. El programa de software DiaSTAT realiza el análisis del cromatograma y genera un informe impreso.

2.0 Componentes de la prueba

2.1 DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program

El DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program está indicado para utilizarse con el Bio-Rad DiaSTAT Analyzer (n.º de catálogo 210-0001).

La utilización del DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program requiere los siguientes componentes. Los reactivos enumerados a continuación son para uso diagnóstico in vitro.

Número de catálogo	Descripción del producto
210-0002/100 pruebas 210-0065/500 pruebas	Paquete de repuesto de DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} para 100/500 pruebas, incluye:
210-0003	1/5 cartuchos de análisis (microcartucho de intercambio catiónico de acero inoxidable, dentro de un adaptador verde); consérvelos a entre 15 y 30 °C, estables hasta la fecha de caducidad;
210-0004	1/5 recipientes de 950 mL de reactivo A (contienen tampón de Bis-Tris con 0,02% de azida sódica como conservante), consérvelos a entre 15 y 30 °C, estables hasta la fecha de caducidad;
210-0005	1/5 recipientes de 455 mL de reactivo B (contienen un tampón de Bis-Tris y cloruro sódico con 0,02% de azida sódica como conservante), consérvelos a entre 15 y 30 °C, estables hasta la fecha de caducidad;
210-0006	1/5 recipientes de 125 mL de reactivo de hemólisis (contienen reactivo de Bis-Tris y saponina con 0,02% de azida sódica como conservante), consérvelos a entre 15 y 30 °C, estables hasta la fecha de caducidad;
210-0007	0/1 Pump Tube Cassette;
210-0061/270-0012	100/500 frascos para muestras.

2.0 Componentes de la prueba

2.2 Elementos necesarios, que puede suministrar Bio-Rad

Número de catálogo	**Descripción del producto**
740	Lyphochek™ Diabetes Controls
194-4003	Puntas de pipeta para el Model 60 Dispenser (10 cajas de 96 puntas cada una)
196-1020	Papel de impresora, 10 rollos
210-0007	Pump Cassette
210-0061	Frascos para muestras (100 por unidad)
210-0062	Puntas de pipeta largas para el Model 60 Dispenser (200 puntas)
210-0075	Model 60 Dispenser
210-0063	Kit de herramientas

2.3 Elementos necesarios, que no puede suministrar Bio-Rad

2.3.1 Pipetas de precisión para 20 µL y 1 mL. Tenga en cuenta que estos elementos pueden utilizarse para la preparación de las muestras, o pueden sustituirse por un dispensador automático (se recomienda el Bio-Rad Model 60 Dispenser).

2.3.2 Mezclador de plataforma.

3.0 Procedimiento

3.1 Control de calidad

Para facilitar el control y la supervisión de la calidad, se recomienda el siguiente protocolo.

Obtenga controles de referencia de glucohemoglobina de una fuente comercial fiable. Se recomienda el Bio-Rad Lyphochek Diabetes Control.

Reconstituya el material de control según las instrucciones del fabricante. Cada día que se utilice el instrumento, deberán procesarse dos niveles de controles. Estos valores pueden utilizarse para vigilar la precisión interanálisis.

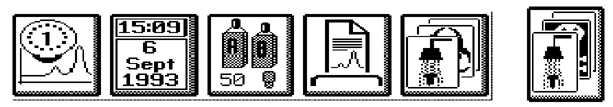
3.2 Calibración

No es necesario analizar el material de calibración. Cada paquete de repuesto de DiaSTAT incluye un prospecto con los ajustes del factor y de la compensación de la calibración. Estos dos ajustes deberán introducirse en la memoria del DiaSTAT mediante la pantalla táctil cada vez que se utilice un nuevo lote de cartuchos DiaSTAT. Cada vez que cambie a un nuevo lote de cartuchos de DiaSTAT, utilice el siguiente procedimiento para verificar o programar los ajustes del factor y de la compensación.

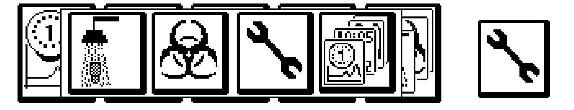
Nota: El DiaSTAT Cartridge Lot se especifica mediante un número de seis dígitos (p. ej., 970602) impreso en la etiqueta del envoltorio del cartucho.

3.2.1 Encienda el DiaSTAT Analyzer.

3.2.2 Pulse el icono del menú de mantenimiento *(primer icono por la derecha en el menú principal).*



3.2.3 Pulse el icono del menú de diagnóstico *(icono de una llave inglesa).*



3.2.4 Pulse el icono del factor/compensación (dibujo de un gráfico).

3.0 Procedimiento

3.2 Calibración (continuación)

3.2.5 Pulse la tecla [**DEL**] (borrado) hasta eliminar el factor anterior.

Nota: En los analizadores DiaSTAT con la placa GMG, hay una tecla ***[CLR]*** *(eliminación) encima de la tecla* ***[DEL]*** *(borrado). Pulse la tecla* ***[CLR]*** *(eliminación) para borrar todo el factor o la compensación que se esté mostrando. La tecla* ***[DEL]*** *(borrado) borra un dígito cada vez.*

3.2.6 Mediante la pantalla táctil, introduzca el nuevo ajuste numérico del factor indicado en el prospecto.

3.2.7 Pulse la tecla “Offset” (compensación).

3.2.8 Pulse la tecla [**DEL**] (borrado) hasta eliminar el ajuste de la compensación anterior.

3.2.9 Mediante la pantalla táctil, introduzca el nuevo ajuste de la compensación indicado en el prospecto.

3.2.10 Pulse la marca de verificación para aceptar los nuevos ajustes del factor y de la compensación. El DiaSTAT tardará unos instantes en escribir en disco los nuevos ajustes del factor y de la compensación.

3.2.11 El DiaSTAT pedirá al usuario que reinicie el sistema. Pulse la marca de verificación para aceptar. El DiaSTAT tardará unos instantes en escribir en disco los nuevos ajustes del factor y de la compensación.

3.2.12 Proceda al análisis del control de calidad y de las muestras de pacientes.

3.3 Recogida de las muestras

Deben recogerse muestras de sangre total en tubos con EDTA o tubos capilares DiaSTAT. Los hemolizados deben prepararse lo antes posible después de la recogida de las muestras. Asegúrese de que los hemolizados se incuban correctamente antes de su análisis. Las muestras de sangre total son estables durante siete días a 4 °C. Las muestras hemolizadas son estables durante 24 horas a 4 °C.

Para las muestras recogidas en tubos con EDTA, consulte las instrucciones para la preparación de las muestras del apartado 3.3 ó 3.4. Para las muestras recogidas en tubos capilares, consulte las indicaciones siguientes.

3.0 Procedimiento

3.3 Recogida de las muestras (continuación)

Recogida en tubos capilares y preparación de las muestras

Para la recogida de las muestras pueden utilizarse los tubos capilares DiaSTAT (n.º de catálogo 210-0064) en vez de tubos con EDTA.

3.3.1 Encienda el Model 60 Dispenser al menos 15 minutos antes de utilizarlo.

Si es necesario, sustituya la botella de reactivo de hemólisis. Introduzca el tubo de aspiración en la botella a través de la tapa. Inicie una secuencia de purga manteniendo pulsado el botón mientras enciende el dispositivo (consulte el apartado 2 del manual de instrucciones del Model 60 Dispenser).

3.3.2 Acople una punta de pipeta desechable al conjunto de mano.

3.3.3 Llene un tubo capilar de 20 µL con sangre total. Introduzca inmediatamente el tubo capilar en un frasco para muestras.

3.3.4 Coloque la punta del dispensador sobre el frasco para muestras y pulse una vez el interruptor accionado con el pulgar. Espere a que finalice el ciclo de aspiración.

3.3.5 Pulse el interruptor accionado con el pulgar por segunda vez para dispensar reactivo de hemólisis caliente en el frasco para muestras. El ángulo de dispensación debe ser de aproximadamente 45°.

3.3.6 Tape o cubra el frasco para muestras con película Parafilm®. Agite vigorosamente el frasco para muestras para extraer la sangre del tubo capilar.

3.3.7 Retire la tapa o la película Parafilm y coloque el frasco para muestras en la bandeja para muestras del DiaSTAT. Para preparar más muestras, repita el procedimiento anterior.

Deje incubar la muestra o las muestras un mínimo de cinco minutos a temperatura ambiente (17-27 °C) antes de iniciar el análisis.

3.3.8 Inicie el análisis.

3.0 Procedimiento

3.4 Preparación de las muestras: Model 60 Dispenser

Para la preparación de las muestras, se recomienda utilizar el Model 60 Dispenser. Las muestras también pueden prepararse manualmente (consulte el apartado 3.5).

3.4.1 Coloque los tubos de ensayo con las muestras de sangre total anticoagulada de pacientes en un mezclador de plataforma. Mezcle hasta que las muestras sean homogéneas.

3.4.2 Mientras se están mezclando las muestras de pacientes, etiquete los frascos de los controles y de las muestras de pacientes.

3.4.3 Encienda el DiaSTAT Dispenser al menos 15 minutos antes de utilizarlo.

3.4.4 Si la unidad está seca, ponga una botella nueva de reactivo de hemólisis en el soporte, introduzca el tubo y el peso de cristal en la botella y ajuste la tapa roscada. Inicie una secuencia de purga manteniendo pulsado el botón mientras enciende el dispositivo (consulte el apartado 2 del manual de instrucciones del Model 60 Dispenser).

3.4.5 Cuando la unidad esté llena de reactivo de hemólisis y los tres diodos luminosos estén encendidos, la unidad estará preparada para aspirar la primera muestra.

3.4.6 Si el conjunto de mano ha estado sin utilizarse durante más de 15 minutos desde la anterior dispensación, haga lo siguiente para calentar la boquilla del conjunto de mano (requiere aproximadamente 1 minuto).

Sin sacar el tubo de aspiración de la solución, retire la tapa de la botella y la punta de pipeta (si la hay). Realice cuatro dispensaciones desde el conjunto de mano, y devuelva el reactivo de hemólisis a la botella.

3.4.7 Acople una punta de pipeta desechable al conjunto de mano, mójela en la muestra de sangre y pulse una vez el interruptor accionado con el pulgar o el pie. El conjunto de mano extrae 20 µL de sangre.

No extraiga la punta de pipeta de la muestra hasta que la jeringa haya dejado de moverse.

3.4.8 Coloque la punta sobre el frasco para muestras y pulse el interruptor de nuevo. El conjunto de mano dispensa la muestra, seguida de 1 mL de reactivo de hemólisis calentado.

3.0 Procedimiento

3.4 Preparación de las muestras: Model 60 Dispenser (continuación)

3.4.9 Tras dispensar la muestra, extraiga la punta del frasco para muestras. Al final de cada ciclo de dispensación, debe aspirarse una pequeña burbuja de aire en la punta de pipeta para evitar que la sangre y el reactivo de hemólisis se mezclen en la punta.

Tras la dispensación, la punta de pipeta no debe estar en contacto con la muestra preparada. Si no se extrae la punta de pipeta de la muestra preparada, la muestra puede aspirarse de nuevo hacia el interior del conjunto de mano.

3.4.10 Sustituya la punta usada por otra nueva. No introduzca la punta nueva en la siguiente muestra de sangre hasta que el diodo luminoso “Status” (estado) esté encendido.

3.4.11 Entonces, la unidad estará preparada para la siguiente muestra.

3.4.12 Incube las muestras durante cinco minutos a temperatura ambiente (17-27 °C) antes de su análisis.

3.5 Preparación de las muestras: método manual

3.5.1 Coloque los tubos de ensayo con las muestras de sangre total anticoagulada de pacientes en un mezclador de plataforma. Mezcle hasta que las muestras sean homogéneas.

3.5.2 Mientras se están mezclando las muestras de pacientes, etiquete los frascos de los controles y de las muestras de pacientes.

3.5.3 Pipetee 20 µL de material de control o sangre total bien mezclada en los frascos para muestras debidamente etiquetados.

3.5.4 Añada 1,0 mL de reactivo de hemólisis a cada uno de los frascos de los controles y las muestras de pacientes.

3.5.5 Tape todas las muestras y agítelas con un agitador.

3.5.6 Incube las muestras durante 30 minutos a 37 °C. La estabilidad de las muestras puede resultar afectada si el tiempo de incubación supera los 40 minutos.

3.0 Procedimiento

3.6 Inicio de una tanda analítica

3.6.1 Tras poner las muestras en la bandeja para muestras, coloque ésta en el pocillo del muestreador automático. Identifique la espiga de acero inoxidable que hay en la parte inferior de la bandeja. Cuando la bandeja está correctamente colocada, la espiga encaja en la ranura de la base del pocillo del muestreador automático.

3.6.2 Comience el análisis de la muestra pulsando el icono de análisis de muestras del menú principal. Tras pulsar el icono de análisis de muestras, la bandeja para muestras girará hasta la posición 1.

Si la bandeja no está asentada correctamente, aparecerá un mensaje de error. Borre el mensaje corrigiendo la posición de la bandeja para muestras, o pulsando el icono de abandono (mano).

3.6.3 Tras finalizar el análisis, los resultados se imprimen en un informe.

4.0 Precauciones de seguridad

4.1 Todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad impresa en las etiquetas si se conservan de acuerdo con las condiciones de conservación recomendadas. No utilice ningún componente después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

4.2 Nunca mezcle el contenido de diferentes frascos del mismo reactivo, ya que el reactivo podría resultar contaminado y comprometer el funcionamiento del producto.

4.3 PRECAUCIÓN: Algunos reactivos contienen azida sódica, que puede reaccionar con el plomo y el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas explosivas. Tenga cuidado al desechar estos reactivos. Si se desechan en un desagüe, deje correr una gran cantidad de agua para evitar la acumulación de azidas.

5.0 Interpretación de los resultados

5.1 Rango no diabético (normal)

La Tercera Encuesta Nacional sobre Salud y Nutrición (Third National Health and Nutrition Examination Survey) estadounidense incluyó sujetos mayores de 20 años con niveles normales de glucemia plasmática en ayunas y sin diagnóstico previo de diabetes. Los valores de HbA_{1c} se midieron con el Bio-Rad DIAMAT™ System.

La media ponderada de HbA_{1c} de pacientes con niveles normales de glucemia plasmática en ayunas (n = 5.694) fue del 5,17%, con una desviación estándar de 0,45%. Los límites de confianza al 95% (media ± 2DE) fueron 4,27-6,07% HbA_{1c}.[8]

Como el DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program está certificado por el Programa Nacional de Estandarización de Glucohemoglobina (NGSP según sus siglas en inglés), este rango normal puede emplearse como referencia hasta que el laboratorio haya analizado el número de muestras suficiente para determinar un rango normal propio representativo de la población regional que se esté analizando.

5.2 Rangos de hemoglobina A_{1c}[9]

Para la interpretación de resultados pueden utilizarse los siguientes rangos de hemoglobina A_{1c}. No obstante, al evaluar el grado de control de la glucemia también deben considerarse factores tales como la duración de la diabetes, el grado de cumplimiento del tratamiento y la edad del paciente. Estos valores no pueden aplicarse a mujeres embarazadas. La "acción recomendada" depende de las circunstancias de cada paciente. Esas acciones pueden incluir: mejor educación sobre el autotratamiento de la diabetes, cotratamiento con un equipo especializado en diabetes, remisión a un endocrinólogo, cambio del tratamiento farmacológico, inicio o aumento de la autovigilancia de la glucemia o contacto más frecuente con el paciente.

Hemoglobina A_{1c} (%)	Grado de control de la glucemia
> 8	Acción recomendada†
< 7	Objetivo‡
< 6	Nivel no diabético

†Alto riesgo de sufrir complicaciones de larga duración, tales como retinopatía, nefropatía, neuropatía y cardiopatía. La acción recomendada depende de las circunstancias de cada paciente.

‡Cierto grado de peligro de reacciones hipoglucémicas en los diabéticos tipo I. Algunas personas con baja tolerancia a la glucosa y los diabéticos "subclínicos" pueden presentar HbA_{1c} (elevada) en este área.

5.0 Interpretación de los resultados

5.3 Determinación de la glucemia plasmática media (GPM)

Con el valor de la HbA_{1c} puede obtenerse información clínica adicional, utilizándolo para calcular el nivel de GPM durante los últimos 60 días. Se analizaron la HbA_{1c} trimestral y los perfiles glucémicos capilares de siete puntos correspondientes obtenidos en el Ensayo de Control y Complicaciones de la Diabetes (DCCT según sus siglas en inglés) para obtener la regresión lineal empleada para calcular la GPM.[10]

Es posible que este cálculo no pueda utilizarse con los métodos menos específicos (HbA_1 total y glucohemoglobina total), ya que la correlación de las fracciones de HbA_{1a} y HbA_{1b} con el control de la glucemia a largo plazo es muy cuestionable. Además, se sabe que los aductos no glucosilados asociados a la insuficiencia renal, el alcoholismo, etc., aumentan las fracciones de HbA_{1a} y HbA_{1b}, lo que haría que se obtuvieran resultados falsamente elevados.[11-13]

Para calcular la GPM a partir del valor de HbA_{1c}, utilice la siguiente ecuación de regresión lineal:

Determinación de la GPM = 35,6 (% de HbA_{1c}) - 77,3

Ejemplos:	HbA_{1c} (%)	Determinación de la GPM (mg/dL)
	6,0	135
	7,0*	170
	9,0	240

*Objetivo de la ADA

5.4 Certificación/trazabilidad respecto a material de referencia

El DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program ha obtenido la certificación del Programa Nacional de Estandarización de Glucohemoglobina (NGSP según sus siglas en inglés), que acredita que el DiaSTAT Program ha demostrado su trazabilidad respecto al método de referencia del Ensayo de Control y Complicaciones de la Diabetes. El propósito del NGSP es estandarizar los resultados de las pruebas de glucohemoglobina de forma que los resultados de los laboratorios clínicos sean comparables con los informados por el DCCT, en el que se han establecido relaciones con la media de glucemia y con el riesgo de padecer complicaciones vasculares.[8]

Los valores del factor y de la compensación de la calibración indicados en el prospecto del cartucho de análisis DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} son homologables con los de la serie de calibradores Kyoto 2002, preparada por el Grupo de

5.0 Interpretación de los resultados

5.4 Certificación/trazabilidad respecto a material de referencia (continuación)

Trabajo para la Estandarización de la HbA_{1c} de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC según sus siglas en inglés). Las muestras se prepararon en el Laboratorio de Referencia Europeo (ERL según sus siglas en inglés) del Queen Beatrix Hospital (Winterswijk, Holanda), que tiene la certificación ISO 9001:2000 para la fabricación de material de referencia. Los valores del calibrador de la IFCC fueron analizados por 12 laboratorios autorizados con el método de referencia de la IFCC. Cada laboratorio realizó las pruebas por cuadruplicado. El valor asignado es la media de todos los resultados de los 12 laboratorios.

La relación entre el método de comparación designado por el NGSP y el método de referencia de la IFCC fue: NGSP = 0,906 (IFCC) + 2,21.[14] Tenga en cuenta que todos los datos de rendimiento y los rangos de referencia de este prospecto se indican en forma de valores NGSP. El prospecto del cartucho de análisis para DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} incluye los valores NGSP e IFCC del factor y de la compensación.

Para convertir las unidades convencionales (porcentaje de hemoglobina total) a unidades del SI (proporción de hemoglobina total), multiplique el porcentaje de A_{1c} por 0,01.

5.5 Formato del informe de muestras

Al final de cada análisis de muestras, se imprimen automáticamente un cromatograma y los datos de las muestras.

Cada informe de muestras incluye:

- Número del pocillo de la muestra.
- Fecha y hora del análisis.
- Una línea de identificación para anotar el número de identificación del paciente.
- Los tiempos de retención de las hemoglobinas A_{1c} y A_0.
- Porcentajes relativos de las hemoglobinas A_{1ab}, A_{1c} y A_1.

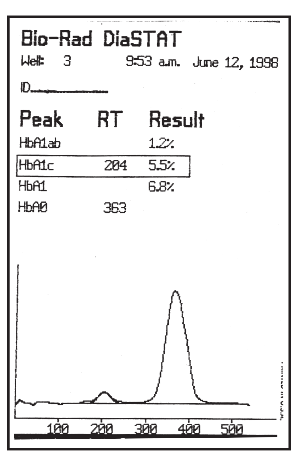


Figura 1.
Informe de muestra (muestra normal).

Si se registran picos de variantes, éstos se identifican mediante un sombreado en el cromatograma, y también se imprime un mensaje de advertencia.

5.0 Interpretación de los resultados

5.6 Informe resumen

Al finalizar el análisis de un lote de muestras, se imprime un informe resumen. El informe resumen incluye una tabla de los informes de las muestras del análisis anterior, sin cromatogramas.

5.7 Cromatogramas de las muestras

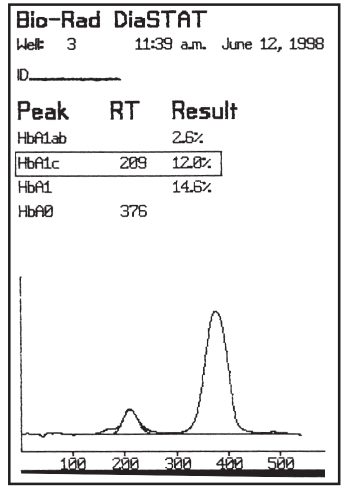


Figura 2.
Muestra de diabético.

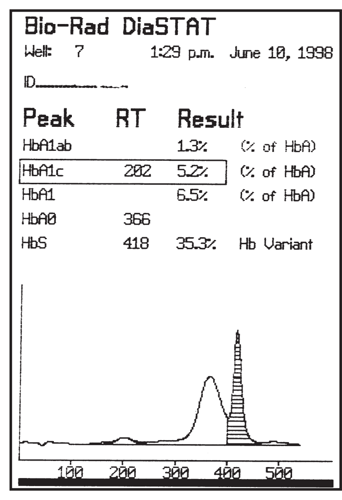


Figura 3.
Muestra normal con rasgo de HbS (AS).

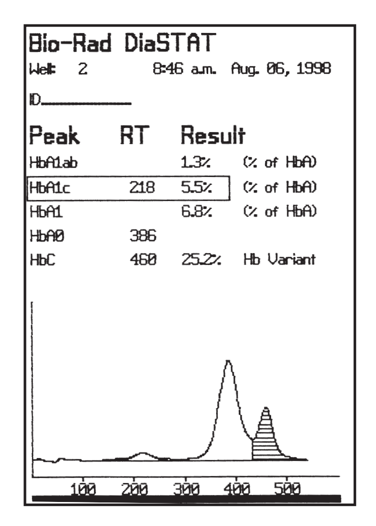


Figura 4.
Muestra normal con rasgo de HbC (AC).

6.0 Características de rendimiento

6.1 Linealidad

La linealidad se analizó empleando dos muestras de sangre total de pacientes: una con un porcentaje alto de HbA_{1c} y otra con un porcentaje bajo. Estas dos muestras se combinaron en varias proporciones para obtener porcentajes relativos específicos (teóricos) de HbA_{1c}, y se hemolizaron con el Model 60 Dispenser.

Cada muestra se analizó cuatro veces con el DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program. Se realizaron cuatro análisis utilizando un instrumento. A continuación, se calculó la media correspondiente a cada nivel de HbA_{1c}. Los resultados del estudio demostraron que el DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program es lineal para valores de HbA_{1c} comprendidos entre 4,3 y 17,0%.

6.2 Precisión

La precisión del DiaSTAT se evaluó en un estudio basado en la norma NCCLS EP5-T2, para "Evaluación de la Precisión de Dispositivos de Química Clínica", adaptada por el Programa Nacional de Estandarización de Glucohemoglobina (NGSP según sus siglas en inglés) para uso en la certificación de métodos de determinación de glucohemoglobina. En este estudio se realizaron 40 análisis de 10 muestras cada uno en dos sistemas DiaSTAT durante 16 días laborables. Se realizaron dos análisis diarios en cada sistema. En cada análisis se analizaron por duplicado partes iguales de muestras altas y bajas. La posición de las muestras de precisión en cada análisis se determinó al azar. El sistema DiaSTAT cumplió los requisitos del NGSP con ambos niveles.

	Paciente con concentración baja		Paciente con concentración alta	
	% CV	SD	% CV	SD
Intraanálisis	3,63	0,19	2,15	0,21
Interdías	1,51	0,08	0,80	0,08
Interanálisis	0,00	0,00	0,00	0,00
Precisión total	3,45	0,18	2,26	0,22
Media (% de A_{1c})	5,2		9,9	

Tabla 1.
Resultados del estudio de la precisión.

6.0 Características de rendimiento

6.3 Muestras lipémicas

Se centrifugaron muestras de sangre total de pacientes con concentraciones bajas, medias y altas de HbA_{1c} para separar los glóbulos rojos del suero. El suero se decantó y se sustituyó por el mismo volumen de suero con concentraciones conocidas de triglicéridos. A partir de las muestras enriquecidas, se prepararon hemolizados de sangre total que se analizaron con el sistema DiaSTAT. Los resultados demuestran que la lipemia no interfiere con el porcentaje de HbA_{1c}.

Concentración de triglicéridos (mg/dL)	Muestra baja (% de HbA_{1c})	Muestra media (% de HbA_{1c})	Muestra alta (% de HbA_{1c})
138	5,4	9,1	10,9
1456	5,5	8,5	10,9
3038	5,2	8,5	10,3
4620	5,4	8,7	10,7
6201	5,1	8,1	10,0
Media	5,3	8,6	10,6
Desviación estándar	0,164	0,363	0,397
Coeficiente de variación (%)	3,1	4,2	3,8

Tabla 2.
Resultados del estudio de la lipemia.

6.0 Características de rendimiento

6.4 Ictericia

Se añadieron 0,0, 2,5, 5,0, 10,0 y 20,0 µL de una solución de bilirrubina de 10 mg/mL a muestras de sangre total de pacientes con concentraciones bajas, medias y altas de HbA_{1c}. A partir de las muestras enriquecidas, se prepararon hemolizados de sangre total que se analizaron con el DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program. Los resultados demuestran que las concentraciones de bilirrubina de hasta 20 mg/dL no interfieren con la medición del porcentaje de HbA_{1c}.

Concentración de bilirrubina (mg/dL)	Muestra baja (% de HbA_{1c})	Muestra media (% de HbA_{1c})	Muestra alta (% de HbA_{1c})
0,0	4,6	9,1	11,5
5,0	4,8	9,3	11,6
10,0	5,0	9,4	11,4
15,0	4,7	8,9	11,8
20,0	4,7	9,3	11,5
Media	4,8	9,2	11,6
Desviación estándar	0,152	0,200	0,152
Coeficiente de variación (%)	3,19	2,17	1,31

Tabla 3.
Resultados del estudio de la ictericia.

6.0 Características de rendimiento

6.5 Correlación

Se comparó el DiaSTAT Hemoglobin A_{1c} Program con el DIAMAT Hemoglobin A_{1c} Program. La comparación de 118 muestras de pacientes arrojó las siguientes correlaciones:

$$y = 1,0263x - 0,0417$$

$$r^2 = 0,98$$

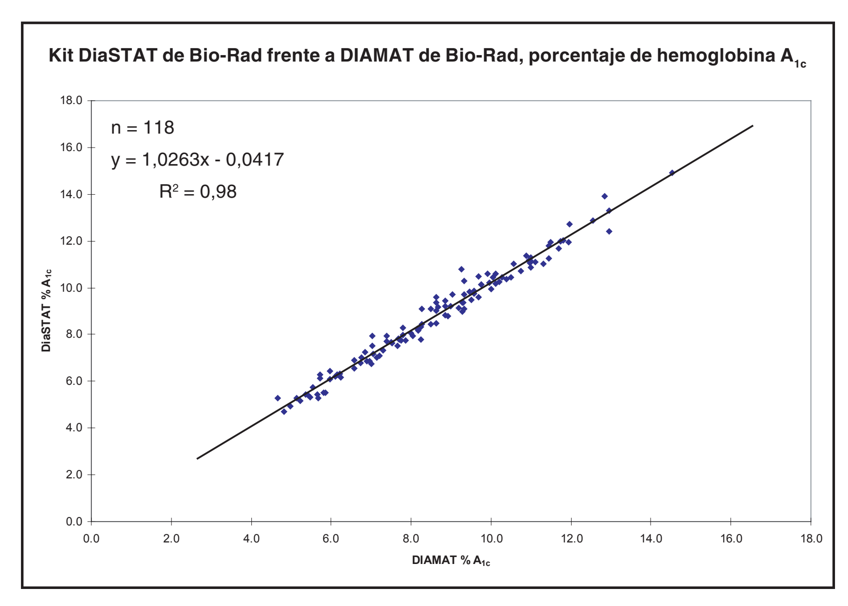


Figura 5.
Correlación DiaSTAT frente a DIAMAT, Hemoglobin A_{1c}

7.0 Limitaciones del procedimiento

7.1 Base de Schiff

La presencia de base de Schiff (o pre-HbA_{1c}) interfiere en la medición de HbA_{1c} y produce valores elevados. Sin embargo, la interferencia de la base de Schiff se reduce si las muestras se preparan de acuerdo con el procedimiento para muestras utilizando la solución hemolizante suministrada.

7.2 Hemoglobina F

La hemoglobina F (HbF) puede interferir en la medición de HbA_{1c}, generando valores de porcentaje de A1c falsamente elevados. La HbF se eluye como una meseta o un pico directamente frente al pico de A_{1c}. Algo de hemoglobina F se incluye en el área de la HbA_{1ab}. En los casos en los que el pico de HbF es mayor que el de HbA_{1c}, la HbF se identificará erróneamente como HbA_{1c}. Vea los siguientes cromatogramas:

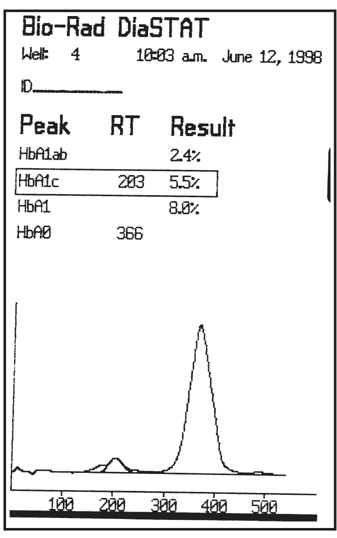


Figura 6.
Muestra de paciente con 5,5% de HbA_{1c} y 1,0% de HbF.

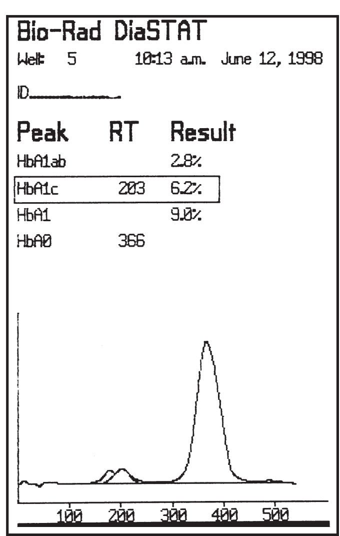


Figura 7.
Muestra de paciente con 5,5% de HbA_{1c} y 2,5% de HbF.

7.0 Limitaciones del procedimiento

7.2 Hemoglobina F (continuación)

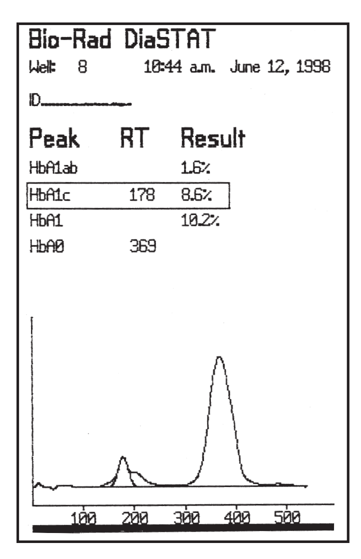


Figura 8.
Muestra de paciente con 5,5% de HbA_{1c} y 10,0% de HbF.

7.3 Hemoglobina S

La presencia de hemoglobina S (HbS) no interfiere en la determinación de HbA_{1c}. Sin embargo, cuando la HbS está asociada a una alta concentración de HbF, el valor de HbA_{1c} será falsamente elevado. Por lo tanto, para confirmar el valor de HbA_{1c} se recomienda emplear un método alternativo, sin interferencias de la HbS ni de la HbF.

7.4 Hemoglobina C

Las muestras de hemoglobina C (HbC) pueden generar arrastre en la siguiente inyección. El arrastre de HbC aparece como un pequeño pico después de la HbA_0. Si se observa arrastre, repita la muestra que siga a un paciente con HbC.

8.0 Referencias

1. Thorpe, S. R.; Baynes, J. W. Nonenzymatic Glycosylation of Proteins in Vitro and in Vivo. In *The Glycoconjugates*; Horowitz, M. I., Ed.; Academic Press: New York, 1982; Vol. 3, pp 113-132.
2. Rahber, S. An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics. *Clin. Chim. Acta* **1968,** *22,* 296-298.
3. Koenig, R. J.; Peterson, C. M.; Jones, R. L.; Saudek, C.; Lehrman, M.; Cerami, A. Correlation of Glucose Regulation and Hemoglobin A_{1c} in Diabetes Mellitus. *N. Engl. J. Med.* **1976,** *295* (8), 417-420.
4. Garlick, R. L.; Mazer, J. S.; Higgins, P. J.; Bunn, H. F. Characterization of Glycosylated Hemoglobins. *J. Clin. Invest.* **1983,** *71,* 1062-1072.
5. Ersser, R. S.; Blight, L.; Hjelm, N. M.; Chambers, K.; James, D. Automated Quantitative Microcolumn Chromatography of Haemoglobin A_2. *Biomed. Chromatogr.* **1991,** *5,* 226-228.
6. Ersser, R. S.; Drew, R. G.; Barlow, G. B.; Hjelm, M. Automated, Quantitative, Low-Pressure, Cation-Exchange Chromatography of Haemoglobin Variants on Midget Columns. *J. Auto. Chem.* **1987,** *9* (2), 92-96.
7. Ersser, R. S.; Barlow, G. B.; Drew, R. G.; Hjelm, M. Packing Materials Suitable for Rapid, Analytical, Low-Pressure Chromatography of Haemoglobins on Midget Columns. *Biomed. Chromatogr.* **1986,** *1* (4), 183-188.
8. Rohlfing, C. L.; Little, R. R.; Wiedmeyer, H. M.; England, J. D.; Madsen, R.; Harris, M. I.; Flegal, K. M.; Eberhardt, M. S.; Goldstein, D. E. Use of GHb (HbA_{1c}) in Screening for Undiagnosed Diabetes in the U.S. Population. *Diabetes Care* **2000,** *23,* 187-191.
9. American Diabetes Association. Standards of Medical Care for Patients with Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* **2001,** *24* (Suppl. 1), 33-43.
10. Rohlfing, C. L.; Wiedmeyer, H. M.; Little, R. R.; England, J. D.; Tennill, A.; Goldstein, D. E. Defining the Relationship Between Plasma Glucose and HbA_{1c}. *Diabetes Care* **2002,** *25,* 275-278.
11. Little, R. R.; England, J. D.; Wiedmeyer, H. M.; Goldstein, D. E. Effects of Whole Blood Storage on Results for Glycosylated Hemoglobin as Measured by Ion-Exchange Chromatography, Affinity Chromatography, and Colorimetry. *Clin. Chem.* **1983,** *29,* 1113-1115.
12. Flückiger, R.; Harmon, W.; Meier, W.; Loo, S.; Gabbay, K. H. Hemoglobin Carbamylation in Uremia. *N. Engl. J. Med.* **1981,** *304,* 823-827.
13. Hoberman, H. D.; Chiodo, S. M. Elevation of the Hemoglobin A_1 Fraction in Alcoholism. Alcohol.: *Clin. Exp. Res.* **1982,** *6,* 260-266.
14. Weycamp, C. Letter to the Manufacturers Participating in “Kyoto” - The Study of the IFCC Working Group on Standardization of HbA_{1c}; Jan 23, 2003.

Notas:



Bio-Rad Laboratories

Clinical Diagnostics Group

4000 Alfred Nobel Drive
Hercules, California 94547
Telephone (510) 724-7000
FAX (510) 741-5824
www.bio-rad.com

AUSTRALIA, *Bio-Rad Laboratories Pty. Ltd. Unit 1 Block Y, 391 Park Road, Regents Park NSW 2143 • Phone 61-2-9914-2800 • Telefax 61-2-9914-2888*
AUSTRIA, *Bio-Rad Laboratories Ges.m.b.H., Auhofstrasse 78D, A-1130 Vienna • Phone 43-1-877-8901 • Telefax 43-1-876-5629*
BELGIUM, *Bio-Rad S.A.-N.V. Begoniastraat 5, B-9810 Nazareth Eke • Phone 32-9-385-5511 • Telefax 32-9-385-6554*
BRAZIL, *Bio-Rad do Brasil, Rua dos Invalidos 212, 5 Andar, Lapa CEP 20231-020, Rio de Janeiro • Phone 5521-2507-6191 • Telefax 5521-2224-6524*
CANADA, *Bio-Rad Laboratories, Ltd., 2403 Guénette Montreal, Québec H4R2E9 • Phone 1-514-334-4372 • Telefax 1-514-334-4415*
CZECH REPUBLIC, *Bio-Rad spol. s.r.o., Nad ostrovem 1119/7, 147 00 Prague 4 • Phone 420-2-41430532 • Telefax 420-2-41431642*
CHINA, *Bio-Rad China Limited, 18F/D Hai Li Building, No. 88 Da Pu Road, Shanghai 200023 • Phone 86-21-63052255 • Telefax 86-21-53964775*
DENMARK, *Bio-Rad Laboratories, Generatorvej 8 C, 2730 Herlev • Phone 45-4452-1000 • Telefax 45-4452-1001*
FINLAND, *Bio-Rad Laboratories, Pihatorma 1 A, FIN-02240 Espoo • Phone 358-9-804-22-00 • Telefax 358-9-804-11-10*
FRANCE, *Bio-Rad S.A., 3 boulevard Raymond Poincaré 92430 Marnes-la-Coquette • Phone 33-1-4795-6000 • Telefax 33-1-4741-9133*
GERMANY, *Bio-Rad Laboratories GmbH, Heidemannstrasse 164, D-80939 Munich • Phone 49-89-318840 • Telefax 49-89-318-84100*
HONG KONG, *Bio-Rad Pacific Ltd., Unit 1111, 11F, New Kowloon Plaza 38, Tai Kok Tsui Rd., Tai Kok Tsui, Kowloon • Phone 852-2789-3300 • Telefax 852-2789-1257*
INDIA, *Bio-Rad Laboratories (India) Pte. Ltd., B&B1, Enkay Towers, Vanijya Nikunj, Udhyog Vihar, Phase-V, Gurgaon, 122016 Haryana • Phone 91-124-6398112• Telefax 91-124-6398115*
ISRAEL, *Bio-Rad Laboratories Ltd., 14 Homa Street, New Industrial Area, Rishon Le Zion 75655 • Phone 972-3-9514127 • Telefax 972-3-9514129*
ITALY, *Bio-Rad Laboratories S.r.l., Via Cellini 18/A, 20090 Segrate, Milan • Phone 39-02-216091 • Telefax 39-02-21609-398*
JAPAN, *Nippon Bio-Rad Laboratories, 7-18, Higashi-Nippori 5-chome, Arakawa-ku, Tokyo 116-0014 • Phone 81-3-5811-6290 • Telefax 81-3-5811-6282*
KOREA, *Bio-Rad Korea Ltd., B1, Cambridge Building, 1461-15, Seocho-Dong, Seocho-Gu, Seoul, 137-070 • Phone 82-2-3473-4460 • Telefax 82-2-3472-7003*
LATIN AMERICA, *Bio-Rad Latin America, 14100 Palmetto Frontage Road, Suite 101, Miami Lakes, Florida 33016 • Phone 305-894-5950 • Telefax 305-894-5960*
MEXICO, *Bio-Rad Laboratorios Mexico, S.A. de C.V., Adolfo Prieto No 1653, Colonia Del Valle, 03100 Mexico, D.F. • Phone 525-534-2552 • Telefax 525-524-5555*
THE NETHERLANDS, *Bio-Rad Laboratories BV, Fokkerstraat 10, 3905 KV Veenendaal • Phone 31-318-540666 • Telefax 31-318-542216*
NEW ZEALAND, *Bio-Rad New Zealand, Unit B 156 Bush Road, Albany, Auckland • Phone 64-9-415-2280 • Telefax 64-9-415-2284*
NORWAY, *Bio-Rad Laboratories, Johan Scharffenbergs vei 91, N-0694, Oslo • Phone 47-23-38-41-30 • Telefax 47-23-38-41-39*
POLAND, *Bio-Rad Laboratories, ul Barburki 8, 04511 Warsaw • Phone 48-22-815-39-51 • Telefax 48-22-812-66-82*
PORTUGAL, *Bio-Rad Laboratories, Rua do Entreposto Industrial, 3-1° Esq., 2724 - 513, Amadora • Phone 351-21-472-7700 • Telefax 351-21-472-7777*
RUSSIA, *Bio-Rad Laboratories Ltd., 23/3 Posledny Pereulok, 103045 Moscow • Phone 7-095-721-14-00 • Telefax 7-095-721-14-12*
SINGAPORE, *Bio-Rad Laboratories (Singapore) Pte. Ltd., 211 Henderson Road #03-02, Henderson Industrial Park, 159552 • Phone 65-272-9877 • Telefax 65-273-4835*
SOUTH AFRICA, *Bio-Rad Laboratories (Pty) Ltd., 34 Bolton Road, Parkwood, Johannesburg 2193 • Phone 27-11-442-85-08 • Telefax 27-11-442-85-25*
SPAIN, *Bio-Rad Laboratories S.A., Lopez de Hoyos 245-247, 28043 Madrid • Phone 34-91-590-5200 • Telefax 34-91-590-5211*
SWEDEN, *Bio-Rad Laboratories A.B., Vintergatan 1, Box 1097, S-172 22, Sundbyberg • Phone 46-8-555-127-00 • Telefax 46-8-555-127-80*
SWITZERLAND, *Bio-Rad Laboratories, Nenzlingerweg 2, CH-4153 Reinach BL• Phone 41-61-717-95-55 • Telefax 41-61-717-95-50*
THAILAND, *Bio-Rad Laboratories Ltd., 1st & 2nd Floor, Lumpini I Bldg., 239/2 Rajdamri Rd., Lumpini, Pathumwan, Bangkok 10330 • Phone 662-651-8311 • Telefax 662-651-8312*
UNITED KINGDOM, *Bio-Rad Laboratories Ltd., Bio-Rad House, Maylands Ave., Hemel Hempstead, Herts HP2 7TD • Phone 44-208-328-2000 • Telefax 44-208-328-2550*